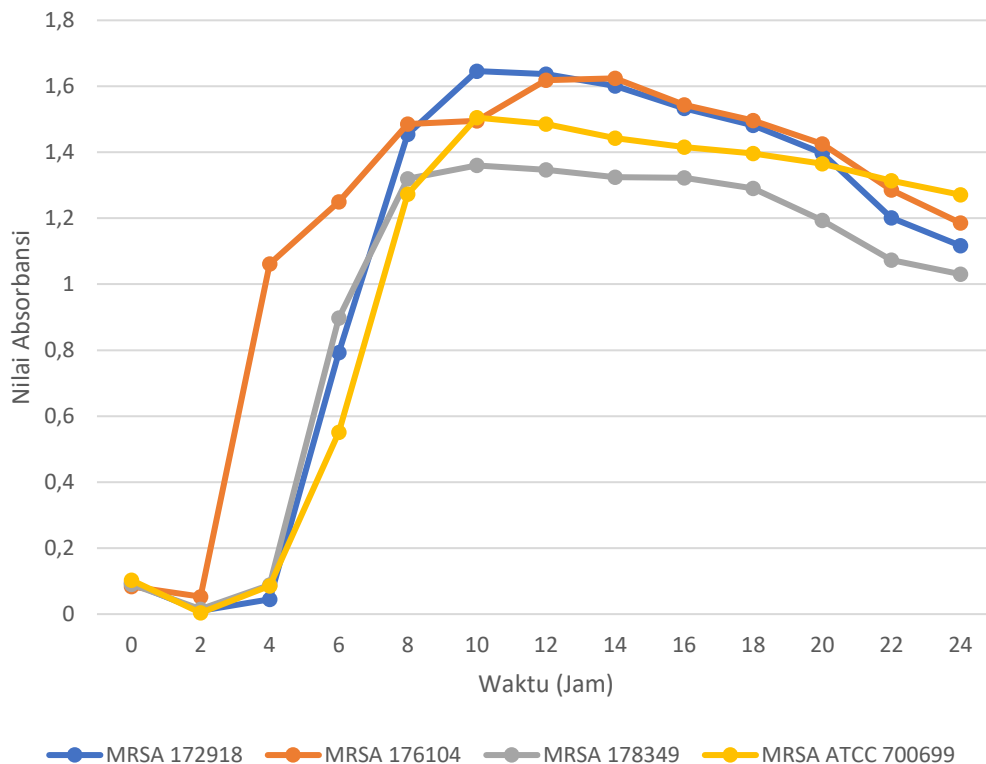


## BAB IV

### TEMUAN DAN PEMBAHASAN

#### 4.1 Fase Pertumbuhan Bakteri MRSA

Grafik kurva tumbuh yang dibuat pada penelitian ini merujuk pada Cappuchino & Sherman (2011) dengan metode *turbidity count*. *Turbidity count* dilakukan dengan cara mengukur absorbansi kultur sel setiap interval waktu 2 jam sekali selama 1×24 jam dan ditentukan berdasarkan hubungan antara nilai absorbansi terhadap waktu inkubasi. Kurva tumbuh dimaksudkan untuk mengetahui pertumbuhan, yaitu pertambahan jumlah atau volume serta ukuran dari masing-masing strain bakteri yang diuji berdasarkan fase-fase tertentu. Grafik kurva tumbuh masing-masing bakteri yang diuji ditampilkan pada Gambar 4.1. Kurva Tumbuh Bakteri MRSA di bawah ini.



Gambar 4.1. Kurva Tumbuh Bakteri MRSA

Berdasarkan hasil kurva tumbuh empat strain bakteri MRSA yang diuji selama 24 jam dengan interval waktu pengamatan setiap dua jam, terdapat beberapa fase pertumbuhan bakteri yang terlihat cukup jelas. Fase lag yang merupakan fase adaptasi,

yaitu masa penyesuaian bakteri dengan lingkungan yang baru berlangsung selama empat jam. Fase ini terjadi pada jam ke-0 hingga jam ke-4. Lamanya fase lag disebabkan oleh beberapa faktor, seperti komposisi media, pH, suhu, aerasi, jumlah sel pada inokulum awal, dan sifat fisiologis mikroorganisme (Khairunnisa, 2014). Selain itu, fase lag dipengaruhi oleh jumlah inokulum awal sel. Semakin tinggi jumlah inokulum awal sel, maka semakin cepat fase adaptasinya (Suprihatin, 2010).

Fase berikutnya adalah fase log atau fase eksponensial yang merupakan fase periode pertumbuhan bakteri yang sangat cepat. Hal ini ditandai dengan meningkatnya nilai absorbansi secara cepat dan konstan yang menunjukkan terjadinya pertumbuhan bakteri secara maksimum. Variasi derajat pertumbuhan bakteri pada fase ini dipengaruhi oleh sifat genetik yang diturunkannya, dan derajat pertumbuhannya dipengaruhi oleh kadar nutrisi dalam media, suhu inkubasi, kondisi pH, dan aerasi. Fase log atau fase eksponensial ini terjadi mulai jam ke-4 hingga jam ke-10.

Fase selanjutnya terjadi jika derajat pertumbuhan bakteri telah menghasilkan populasi yang maksimum, maka akan terjadi keseimbangan antara jumlah sel yang mati dan jumlah sel yang hidup. Kondisi saat laju pertumbuhan bakteri sama dengan laju kematiannya sehingga jumlah bakteri keseluruhan akan tetap disebut dengan fase stasioner. Fase stasioner ini terjadi pada jam ke-10 hingga jam ke-14. Pada fase ini terdapat keseimbangan jumlah keseluruhan bakteri karena adanya pengurangan derajat pembelahan sel. Hal ini disebabkan oleh beberapa faktor seperti kadar nutrisi yang berkurang dan terjadi akumulasi produk toksik sehingga mengganggu pembelahan sel (Volk dan Wheeler, 1993). Sisanya, pada jam ke-16 hingga jam ke-24, terlihat adanya penurunan *Optical Density* (OD) yang berarti bakteri tersebut mulai memasuki fase dimana jumlah sel yang mati lebih besar daripada jumlah sel yang hidup.

Hubungan antara nilai absorbansi dan jumlah sel bakteri dapat dibuat kurva baku untuk selanjutnya digunakan untuk memperhitungkan data nilai absorbansi menjadi jumlah sel yang sebenarnya. Setelah dilakukan uji regresi, diketahui bahwa hasil analisis kurva baku pertumbuhan bakteri MRSA 172918 adalah  $y = 2E+07x + 9249,7$  dengan  $y$  adalah jumlah sel dan  $x$  adalah nilai absorbansi. Nilai koefisien determinasi bakteri MRSA 17918 sebesar 0,984 yang artinya sebesar 98,4% absorbansi memengaruhi log jumlah sel bakteri. Pada bakteri MRSA 176104, hasil analisisnya adalah  $y = 4E+07x + 1E+06$  dengan nilai koefisien determinasi sebesar 0,997 atau sebesar 99,7% absorbansi

memengaruhi log jumlah sel bakteri. Pada bakteri MRSA 178349, hasil analisisnya adalah  $y = 2E+07x - 408706$  dengan nilai koefisien determinasi sebesar 0,965 atau sebesar 96,5% absorbansi memengaruhi log jumlah sel bakteri. Pada bakteri MRSA ATCC 700699, hasil analisisnya adalah  $y = 5E+07x + 3E+06$  dengan dengan nilai koefisien determinasi sebesar 0,831 atau sebesar 83,1% absorbansi memengaruhi log jumlah sel bakteri.

Setelah diketahui persamaan regresi dari keempat strain bakteri MRSA uji, maka log sel bakteri dapat dihitung dan laju pertumbuhan bakteri ( $\mu$ ) dapat dihitung. Hasil perhitungan kurva baku nilai absorbansi terhadap jumlah sel bakteri yang sebenarnya beserta laju pertumbuhan ( $\mu$ ) dapat dilihat pada Tabel 4.1. mengenai hasil perhitungan kurva baku jumlah sel bakteri MRSA dari nilai absorbansinya. Adapun grafik kurva baku yang dihasilkan dapat dilihat pada Lampiran 2.

Tabel 4.1. Hasil Perhitungan Kurva Baku Jumlah Sel Bakteri MRSA

Jam	MRSA 172918				MRSA 176104			
	Jumlah Sel ( $10^3$ )	LOG	Absorb-ansi	Laju Pertum-buhan	Jumlah Sel ( $10^3$ )	LOG	Absorb-ansi	Laju Pertum-buhan
<b>0</b>	1.889	6,276	0,094	0	4.360	6,639	0,084	0
<b>2</b>	209	5,321	0,010	-1,587	3.120	6,494	0,053	-0,241
<b>4</b>	909	5,959	0,045	1,060	43.480	7,638	1,062	1,116
<b>6</b>	15.869	7,201	0,793	<b>2,063</b>	51.000	7,708	1,25	<b>1,900</b>
<b>8</b>	29.109	7,464	1,455	0,437	60.440	7,781	1,486	0,121
<b>10</b>	32.929	7,518	1,646	0,090	60.800	7,784	1,495	0,005
<b>12</b>	32.749	7,515	1,637	-0,005	65.760	7,818	1,619	0,056
<b>14</b>	32.029	7,506	1,601	-0,015	65.960	7,819	1,624	0,002
<b>16</b>	30.669	7,487	1,533	-0,032	62.760	7,798	1,544	-0,035
<b>18</b>	29.649	7,472	1,482	-0,025	60.840	7,784	1,496	-0,023
<b>20</b>	27.949	7,446	1,397	-0,043	58.000	7,763	1,425	-0,035
<b>22</b>	24.029	7,381	1,201	-0,108	52.440	7,720	1,286	-0,071
<b>24</b>	22.349	7,349	1,117	-0,053	48.440	7,685	1,186	-0,058
Jam	MRSA 172918				MRSA 176104			
	Jumlah Sel ( $10^3$ )	LOG	Absorb-ansi	Laju Pertum-buhan	Jumlah Sel ( $10^3$ )	LOG	Absorb-ansi	Laju Pertum-buhan
<b>0</b>	2.209	6,344	0,090	0	8.150	6,911	0,103	0
<b>2</b>	709	5,850	0,015	-0,821	3.200	6,505	0,004	-0,674
<b>4</b>	2.169	6,336	0,088	0,807	7.300	6,863	0,086	0,594
<b>6</b>	18.369	7,264	0,898	<b>1,542</b>	30.550	7,485	0,551	<b>1,033</b>

<b>8</b>	26.809	7,428	1,320	0,272	66.650	7,824	1,273	0,563
<b>10</b>	27.609	7,441	1,360	0,022	78.250	7,893	1,505	0,115
<b>12</b>	27.349	7,437	1,347	-0,007	77.300	7,888	1,486	-0,008
<b>14</b>	26.909	7,430	1,325	-0,012	75.150	7,876	1,443	-0,020
<b>16</b>	26.869	7,429	1,323	-0,002	73.800	7,868	1,416	-0,013
<b>18</b>	26.229	7,419	1,291	-0,017	72.800	7,862	1,396	-0,010
<b>20</b>	24.289	7,385	1,194	-0,057	71.250	7,853	1,365	-0,015
<b>22</b>	21.869	7,340	1,073	-0,075	68.700	7,837	1,314	-0,027
<b>24</b>	21.028	7,323	1,031	-0,028	66.550	7,823	1,271	-0,023

Berdasarkan data laju pertumbuhan dari tabel 4.1, dapat diketahui masing-masing waktu yang optimum untuk melakukan uji aktivitas antibakteri terhadap bakteri keempat bakteri MRSA. Laju pertumbuhan yang paling maksimal terjadi pada jam ke-6 untuk masing-masing bakteri MRSA uji. Kultivasi dilakukan pada fase log dan jam tersebut karena pada waktu tersebut masing-masing strain bakteri MRSA berada pada kondisi pertumbuhan paling maksimal dan optimal. Usia bakteri pada waktu tersebut nantinya akan dijadikan acuan untuk uji-uji antibakteri yang akan dilakukan selanjutnya. Adapun hasil perhitungan kurva baku jumlah sel bakteri dengan nilai absorbansi yang berbeda-beda pada setiap strain bakterinya disebabkan oleh beberapa faktor, yaitu faktor intrinsik dan faktor ekstrinsik. Faktor intrinsik meliputi kecepatan konstan pembelahan sel yang dipengaruhi oleh sifat dan genetik dari sel mikroba itu sendiri. Sedangkan faktor ekstrinsik seperti agitasi yang memengaruhi pencampuran nutrisi, massa dan penghantaran panas yang dapat menyebabkan variasi dalam pertumbuhan dan pembentukan produk metabolisme serta kerusakan struktur sel, dan juga dipengaruhi oleh kondisi lingkungan, sehingga memungkinkan bahwa apabila terjadi perubahan kondisi lingkungan maka hasilnya pun akan berbeda (Nursid dkk., 2015).

## 4.2 Ekstraksi Buah Kemukus

Metode yang digunakan pada proses ekstraksi dalam penelitian ini adalah metode ekstraksi sederhana. Hal ini dikarenakan menurut Gamse (2017), jika jenis bahan yang akan dipisahkan senyawanya berasal dari bahan alam, maka metode ekstraksi yang digunakan adalah maserasi, salah satu jenis daripada ekstraksi sederhana. Maserasi digunakan untuk senyawa yang tidak tahan panas (Ketaren,

2014). Oleh sebab itu, dengan digunakannya proses maserasi, tidak akan ada senyawa yang hilang dari buah kemukus (*Piper cubeba* L.) karena tingginya suhu.

Salah satu kandungan senyawa dalam buah kemukus yang telah terbukti berpotensi menjadi antibakteri adalah senyawa fenolik. Pelarut etanol merupakan pelarut yang ideal untuk memisahkan senyawa fenolik secara optimal (Photitirat dkk., 2014). Oleh sebab itu, pelarut yang digunakan dalam penelitian ini adalah etanol absolut. Etanol digunakan sebagai pelarut atas dasar hal-hal penting yang harus diperhatikan dalam memilih pelarut seperti selektivitas, sifat pelarut, kemampuan untuk mengekstraksi, tidak bersifat racun, mudah diuapkan dan harganya relatif murah. Etanol memiliki polaritas yang paling dekat dengan air (Gamse, 2017).

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, dari 300 g buah kering kemukus yang dilarutkan dengan etanol absolut sebanyak 1200 ml, didapat simplisia akhir ekstrak sebesar 17,1 g. Rumus perhitungan rendemen berdasarkan Dewatisari dkk. (2017) adalah sebagai berikut:

$$\text{Rendemen ekstrak buah kemukus} = \frac{\text{Berat simplisia akhir ekstrak}}{\text{Berat bahan baku awal}} \times 100\%$$

$$\text{Rendemen ekstrak buah kemukus} = \frac{17,1}{300} \times 100\%$$

$$\text{Rendemen ekstrak buah kemukus} = 5,7\%$$

Berdasarkan rumus perhitungan di atas, dapat diketahui bahwa rendemen yang merupakan perbandingan jumlah (kuantitas) minyak yang dihasilkan dari ekstraksi buah kemukus adalah sebesar 5,7%.

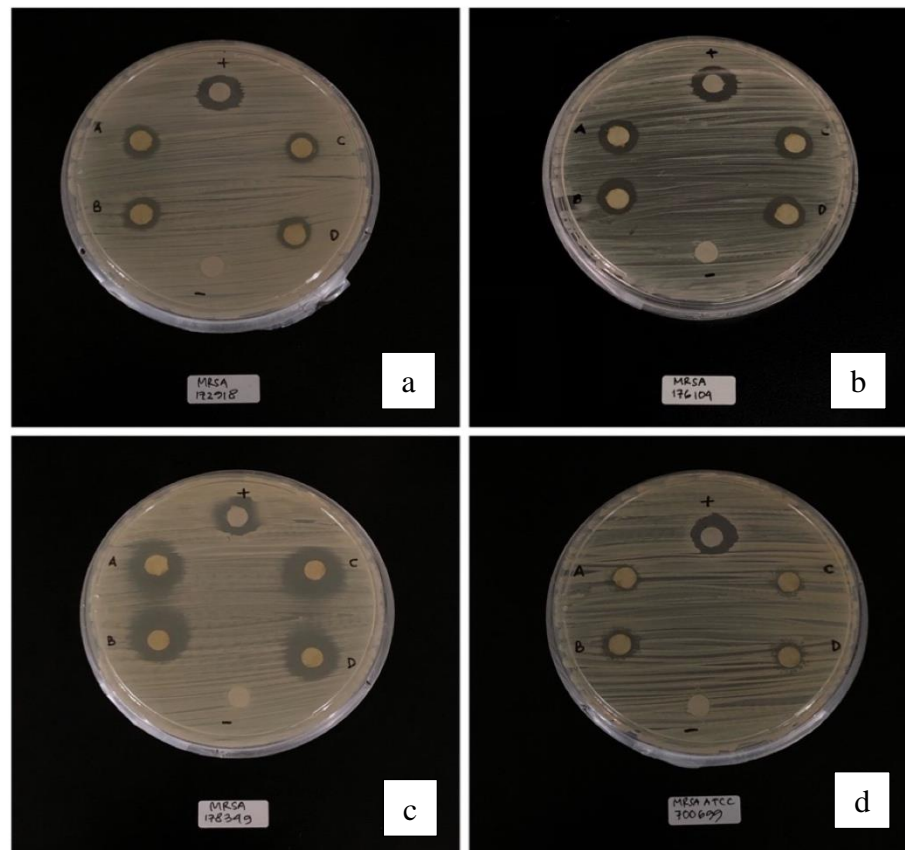
Hal tersebut menjelaskan bahwa dari sebanyak 300 g buah kering kemukus yang dilarutkan dalam 1200 ml etanol yang digunakan dalam proses ekstraksi, minyak yang mengandung senyawa-senyawa esensial yang nantinya akan diuji karena berpotensi sebagai agen antibakteri hanya sebanyak 5,7% nya saja. Senyawa-senyawa tersebut merupakan senyawa fenolik yang sudah terpisahkan dari ampas dan pelarutnya pada saat proses evaporasi karena pelarut etanol yang digunakan merupakan pelarut yang ideal untuk memisahkan senyawa fenolik secara optimum (Photitirat dkk., 2014). Adapun gambar mengenai hasil rendemen yang didapat dilihat pada Lampiran 4.

### 4.3 *Disc Diffusion Assay (DDA)*

Uji aktivitas antibakteri yang pertama dilakukan adalah uji *Disc Diffusion Assay* (DDA) menggunakan 1% ekstrak etanol buah kemukus terhadap empat strain bakteri MRSA, yaitu MRSA 172918, MRSA 176104, MRSA 178349 dan MRSA ATCC 700699. Pada uji ini, terdapat pula dua kontrol yang digunakan sebagai pembandingan uji dengan ekstrak, yaitu ada *chlorohexidine* (CHX) 0,1% sebagai kontrol positif dan *dimetil sulfoxide* (DMSO) 10% sebagai kontrol negatif.

Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Horner dkk. (2012) CHX dilaporkan memiliki daya antibakteri yang cukup kuat terhadap bakteri *Methicillin Susceptible Staphylococcus aureus* (MSSA) dan memiliki daya penghambatan *Minimum Inhibitory Concentration* (MIC) terhadap strain bakteri *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA). Sementara digunakannya DMSO 10% sebagai kontrol negatif dalam uji DDA karena DMSO 10% merupakan pelarut dengan spektrum yang sangat luas dan telah terbukti tidak memiliki pengaruh sebagai antibakteri terhadap bakteri Gram positif dan bakteri Gram negatif (Utomo dkk., 2018).

Berdasarkan hasil pengamatan uji DDA 1% ekstrak buah kemukus terhadap empat strain bakteri MRSA, diketahui bahwa ekstrak tersebut memiliki aktivitas antibakteri terhadap empat strain bakteri MRSA uji. Namun, pengaruh mengenai daya aktivitas antibakteri ekstrak etanol 1% buah kemukus ini berbeda-beda terhadap empat strain bakteri uji, hal ini dibuktikan dari besarnya zona hambat yang dihasilkan oleh setiap masing-masing strain bakteri MRSA yang berbeda pula. Perbedaan besar diameter zona hambat yang terbentuk di sekitar kertas cakram oleh masing-masing strain bakteri MRSA ditunjukkan pada Gambar 4.3 di bawah ini.

Gambar 4.3 Hasil Uji *Disc Diffusion Assay* (DDA)

(a) MRSA 172918 (b) MRSA 176104 (c) MRSA 178349 (d) MRSA ATCC 700699

Setelah bakteri diinkubasi selama 24 jam dan dihasilkan zona hambat seperti yang terlihat pada Gambar 4.3, zona bening yang terbentuk diukur diameternya menggunakan penggaris. Data diameter zona hambat yang didapat dijelaskan dalam Tabel 4.3.1 di bawah ini.

Tabel 4.3.1 Diameter Zona Hambat Uji DDA

Bakteri Uji	Perlakuan	Rata-rata (mm) $\pm$ SD	Keterangan
MRSA 172918	Ekstrak 1%	10,50 $\pm$ 0,58	Kuat
	Kontrol (+)	13,00 $\pm$ 0,00	Kuat
MRSA 176104	Ekstrak 1%	11,75 $\pm$ 0,50	Kuat
	Kontrol (+)	13,00 $\pm$ 0,00	Kuat
MRSA 178349	Ekstrak 1%	16,50 $\pm$ 0,58	Kuat
	Kontrol (+)	13,00 $\pm$ 0,00	Kuat
MRSA ATCC 700699	Ekstrak 1%	9,25 $\pm$ 0,50	Sedang
	Kontrol (+)	13,00 $\pm$ 0,00	Kuat
Kontrol (-)		0	

Nilai merupakan rata-rata  $\pm$  SD dari pengulangan (n=3).

Catatan: pengukuran dilakukan dengan memasukkan nilai diameter cakram



Berdasarkan data pada Tabel 4.3.1 di atas, dapat diketahui bahwa ekstrak buah kemukus memiliki aktivitas antibakteri yang paling kuat terhadap bakteri MRSA 178349. Semakin besar zona hambat yang dihasilkan maka semakin banyak pula bakteri yang mati dan terhambat pertumbuhannya oleh ekstrak buah kemukus yang diberikan. Hal ini dibuktikan dengan paling besarnya diameter rata-rata zona hambat yang didapat pada bakteri MRSA 178349. Selain itu, ekstrak buah kemukus juga memiliki aktivitas antibakteri yang kuat terhadap MRSA 176104 dan 178349 serta memiliki aktivitas antibakteri yang sedang terhadap MRSA 172918. Kategorisasi aktivitas antibakteri yang kuat dan sedang tersebut ditinjau berdasarkan data yang ada pada Tabel 2.3.1.

Perbedaan pengaruh daya antibakteri ekstrak buah kemukus 1% terhadap masing-masing strain bakteri diakibatkan karena adanya perbedaan genetik setiap strain bakteri. Menurut penelitian yang dilakukan oleh Uri Sela dkk. (2018), bakteri dari spesies dan strain yang sama masih memiliki perbedaan “aksesori” gen yang berbeda-beda yang menghasilkan tanggapan sistem kekebalan yang sangat bervariasi, hal ini terutama terjadi pada bakteri patogen. Aksesori gen yang dimaksud bertanggung jawab atas perbedaan antar strain terlepas dari genom inti spesies bakteri tersebut.

Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Matsuo & Komatsuzawa dkk. (2012) tentang faktor yang memengaruhi resistensi bakteri MRSA, strain MRSA yang terisolasi secara klinis memiliki berbagai tingkat resistensi yang berbeda, mulai dari yang resistensi tinggi, sedang, dan rendah terhadap agen antibakteri. Variasi dalam resistensi ini disebut “*resisten-heterogen*”. Pada strain bakteri MRSA, perbedaan pengaruh resistensi bakteri terhadap agen antibakteri dipengaruhi oleh berbagai faktor, seperti fisiologi biosintesis dinding sel, regulasi pengaturan gen, termasuk faktor virulensi dan interaksi bakteri dengan faktor imun inang. Sebagian besar faktor ini terkait dengan biosintesis dinding sel. Selain itu, beberapa regulator transkripsi telah diidentifikasi, hal tersebut menunjukkan bahwa beberapa regulator bertanggung jawab atas biosintesis dinding sel. Meskipun banyak faktor yang memengaruhi resistensi telah ditentukan, alasan untuk berbagai tingkat resistensi di MRSA masih belum diketahui karena tingkat resistensi



dimediasi oleh mekanisme rumit atau mekanisme berbeda di antara strain (Barger, 2002).

Pemaparan di atas dapat menjelaskan mengapa terjadi perbedaan respons dari ke empat strain bakteri MRSA uji terhadap ekstrak kemukus yang digunakan. Dalam hal ini, strain MRSA 178349 yang memiliki diameter zona hambat paling besar memiliki sifat genetis dan fisiologis yang lebih rentan terhadap pemberian ekstrak kemukus, dalam arti lain, strain tersebut memiliki kekebalan genetis yang paling rendah atau patogenitas yang lebih kecil dibandingkan strain MRSA lainnya.

Berbeda dengan pengaruh ekstrak buah kemukus, CHX memiliki pengaruh aktivitas antibakteri yang kuat dan sama terhadap ke empat strain bakteri MRSA dengan besaran zona hambat sebesar 13 mm. Sementara pada kelompok kontrol negatif yang diberi perlakuan DMSO 10%, di semua bakteri tidak ditemukan adanya zona hambat yang terbentuk. Hal ini menunjukkan bahwa DMSO 10% tidak dapat menghambat pertumbuhan bakteri atau tidak memiliki aktivitas antibakteri terhadap semua jenis bakteri MRSA yang diuji.

Untuk melihat perbedaan pengaruh baik ekstrak maupun CHX terhadap keempat strain bakteri MRSA yang diuji, maka dilakukan uji statistik. Uji statistik yang pertama kali digunakan adalah uji normalitas. Uji normalitas yang digunakan adalah Saphiro-Wilk karena sampel dalam penelitian yang digunakan kurang dari 30. Adapun tujuan daripada uji normalitas sendiri adalah untuk melihat distribusi data selisih diameter zona hambat pada bakteri uji. Setelah diketahui bahwa data pada uji DDA penelitian ini tidak terdistribusi normal, maka uji yang digunakan selanjutnya adalah uji statistik non parametrik. Uji statistik non parametrik yang digunakan dalam penelitian ini adalah uji *Mann Whitney*. Uji *Mann-Whitney Test* adalah uji non parametrik yang digunakan untuk mengetahui perbedaan median dua kelompok bebas apabila skala data variabel terikatnya adalah ordinal atau interval/ratio tetapi tidak berdistribusi normal. Hasil perbedaan pengaruh uji statistik tersebut dijelaskan pada Tabel 4.3.2 di bawah ini.

Tabel 4.3.2 Hasil Uji Statistik

Variabel Uji	Bakteri Uji		P-value
Ekstrak dengan Ekstrak	MRSA 172918	MRSA 176104	0,029
	MRSA 172918	MRSA 178349	0,029
	MRSA 172918	MRSA ATCC 700699	1,000*
	MRSA 176104	MRSA 178349	0,029
	MRSA 176104	MRSA ATCC 700699	0,029
	MRSA 178349	MRSA ATCC 700699	0,029
CHX dengan CHX	MRSA 172918	MRSA 176104	1,000*
	MRSA 172918	MRSA 178349	1,000*
	MRSA 172918	MRSA ATCC 700699	1,000*
	MRSA 176104	MRSA 178349	1,000*
	MRSA 176104	MRSA ATCC 700699	1,000*
	MRSA 178349	MRSA ATCC 700699	1,000*
Ekstrak dengan CHX	MRSA 172918	MRSA 172918	0,029
	MRSA 176104	MRSA 176104	0,029
	MRSA 178349	MRSA 178349	0,029
	MRSA ATCC 700699	MRSA ATCC 700699	0,029

Keterangan: \*Signifikansi  $p\text{-value} > 0,05$

Berdasarkan hasil analisis statistik yang tertera pada Tabel 4.3.2 di atas, diketahui bahwa pengaruh ekstrak etanol buah kemukus terhadap bakteri MRSA yang satu dengan yang lainnya tidak sama. Oleh sebab itu, melalui uji statistik *Mann Whitney* dapat dijelaskan perbedaannya satu per-satu. Variabel uji ekstrak dengan ekstrak pada bakteri MRSA 172918 dengan MRSA ATCC 700699 memiliki nilai signifikansi  $>0,05$ , maknanya pengaruh daya antibakteri ekstrak buah kemukus terhadap bakteri MRSA 172918 tidak berbeda signifikan atau hampir sama pengaruhnya dengan pengaruh ekstrak buah kemukus terhadap bakteri MRSA ATCC 700699. Sisanya, signifikansi  $<0,05$  menunjukkan bahwa pengaruh ekstrak buah kemukus terhadap kedua bakteri uji yang dibandingkan memiliki perbedaan yang signifikan. Dalam hal ini, hanya bakteri MRSA 172918 dan MRSA ATCC 700699 yang memiliki pengaruh yang sama setelah diberikan 1% ekstrak buah kemukus. Sementara kombinasi bakteri MRSA lainnya memiliki pengaruh yang berbeda signifikan setelah diberikan 1% ekstrak buah kemukus.

Pada uji variabel CHX dengan CHX, semua kombinasi bakteri yang diuji menunjukkan nilai signifikansi  $>0,05$ . Hal ini bermakna bahwa CHX memiliki pengaruh daya hambat antibakteri yang sama terhadap seluruh strain bakteri MRSA yang diuji. Hal ini terbukti dengan konstannya besar diameter zona hambat yang dihasilkan oleh setiap bakteri yang diberi perlakuan CHX (Tabel 4.3.1).

Selain variabel uji ekstrak dengan ekstrak dan CHX dengan CHX, diuji juga variabel antara ekstrak dengan CHX. Berdasarkan data pada Tabel 4.3.2, semua bakteri menunjukkan pengaruh yang berbeda secara signifikan antara yang diberi CHX dan yang diberi ekstrak buah kemukus. Hal ini dapat dilihat dari nilai signifikansi pada setiap bakteri yang  $<0,05$ . Hal ini juga dapat dibuktikan dari cukup besarnya perbedaan nilai zona hambat yang terbentuk pada saat diberi perlakuan CHX dengan yang diberi perlakuan ekstrak buah kemukus pada Tabel 4.3.1. Adapun hasil uji statistik dari uji normalitas hingga uji *Mann Whitney* dapat dilihat pada Lampiran 3.

Adanya aktivitas antibakteri oleh ekstrak buah kemukus disebabkan karena adanya senyawa fenolik (*cineole*, *terpineol*, *cadinol*, *cubebol*) dalam buah kering kemukus yang telah terbukti memiliki aktivitas antibakteri terhadap *E. coli*, *Staphylococcus aureus* dan *Salmonella* (Godoy de Lima, 2018). Mekanisme antibakteri dari senyawa fenolik adalah dengan cara mendenaturasi protein di dinding sel bakteri dengan cara menghambat sintesis enzim, menonaktifkan enzim, menyebabkan hilangnya viabilitas dan seringkali menyebabkan lisis sel (Pelczar & Chan, 2008).

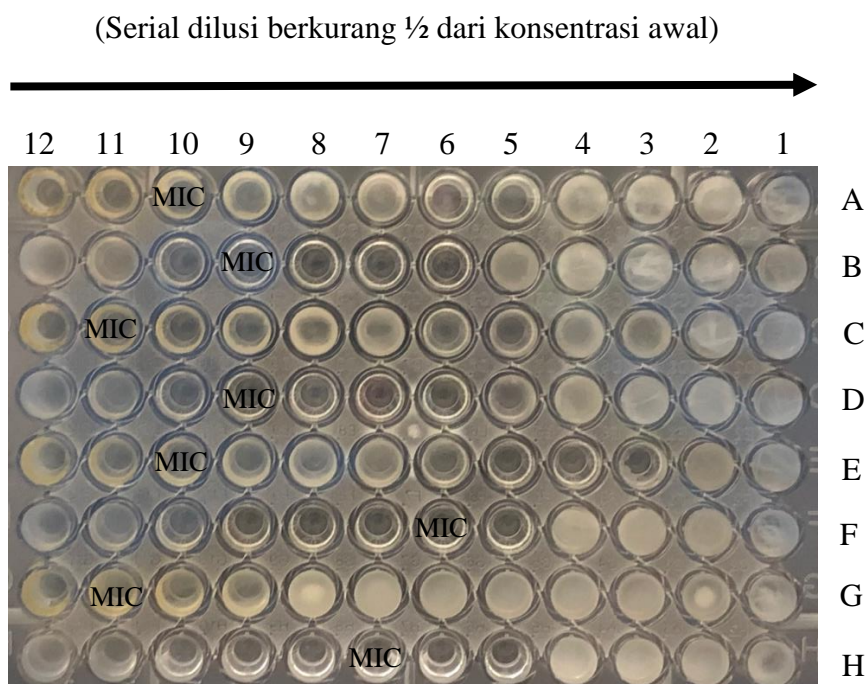
Selain senyawa fenolik, lignan jenis *cubebin* pada buah kemukus telah terbukti memiliki aktivitas antimikroba. Mekanisme kerja dari senyawa ini yaitu dengan menghambat fungsi membran sel dengan merusak struktur asam teikoat di dinding sel kemudian masuk dan merusak membran sel (Marselia dkk., 2015). Membran sel memiliki fungsi untuk mempertahankan bahan-bahan tertentu di dalam sel. Membran ini memiliki karakteristik permeabel dan memiliki fungsi selektif untuk mengontrol masuk dan keluarnya zat dari dan ke dalam sel, serta menjaga tekanan osmotik internal dari ekskresi produk limbah. Selain itu, membran sel juga terkait dengan replikasi DNA dan sintesis dinding sel (Pelczar & Chan, 2008). Dengan rusaknya membran sel suatu bakteri oleh cubebin, maka proses replikasi DNA dan

sintesis dinding sel pun akan terganggu. Selain memiliki aktivitas antibakteri, cubebin juga dilaporkan menunjukkan aktivitas antiinflamasi, analgesik dan aktivitas tripanosidal (Karen dkk., 2016).

#### **4.4 Minimum Inhibitory Concentration (MIC)**

*Minimum Inhibitory Concentration* (MIC) merupakan metode dilusi cair yang bertujuan untuk mengetahui konsentrasi minimum dari ekstrak buah kemukus yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri MRSA 172918, MRSA 176104, MRSA 178349 dan MRSA ATCC 700699. Persiapan uji MIC dimulai dengan melakukan perbandingan suspensi bakteri pada medium *Mueller Hinton Broth* (MHB) dengan standar kekeruhan 0,5 McFarland. Standar McFarland digunakan sebagai referensi untuk menyesuaikan kekeruhan suspensi bakteri sehingga jumlah bakteri akan berada dalam kisaran yang ditentukan untuk pengujian mikroba standar. Standar kekeruhan 0,5 McFarland memberikan kerapatan optik yang sebanding dengan kerapatan suspensi bakteri  $1,5 \times 10^8$  *Colony Forming Units* (CFU/ml).

Penentuan nilai MIC dilakukan dengan cara melihat tingkat kekeruhan pada lempeng 96 mikrotiter sumur dari hasil uji setelah inkubasi selama 24 jam seperti yang terlihat pada Gambar 4.4. Pada Gambar 4.4, nilai MIC ditentukan secara visual melalui perbedaan kekeruhan koloni bakteri pada sumur, sumur yang terlihat lebih bening (tingkat kekeruhan berkurang) dari sumur sebelumnya, menunjukkan nilai MIC itu sendiri. Nilai MIC antar masing-masing strain bakteri bisa berbeda baik yang diberi perlakuan ekstrak buah kemukus maupun yang diberi perlakuan CHX. Hal tersebut dapat terjadi karena strain MRSA yang terisolasi secara klinis memiliki berbagai tingkat resistensi yang berbeda, mulai dari yang resistansi tinggi, sedang, dan rendah terhadap agen antibakteri. Pada strain bakteri MRSA, perbedaan pengaruh resistensi bakteri terhadap agen antibakteri dipengaruhi oleh berbagai faktor, seperti fisiologi biosintesis dinding sel, regulasi pengaturan gen, termasuk faktor virulensi dan interaksi bakteri (Matsuo dkk. 2012).



Gambar 4.4. Hasil MIC pada *microtiter 96-well plate*  
 (A) MRSA 172918 + ekstrak (B) MRSA 172918 + CHX (C) MRSA 176104 + ekstrak (D) MRSA 176104 + CHX (E) MRSA 178349 + ekstrak (F) MRSA 178349 + CHX (G) MRSA ATCC 700699 + ekstrak (H) MRSA ATCC 700699 + CHX (1) Medium MHB tanpa inokulum (2) Inokulum tanpa perlakuan (3-12) Inokulum dengan perlakuan

Representasi hasil uji MIC pada Gambar 4.4 dijelaskan juga pada Tabel 4.4. Tabel 4.4 di bawah menjelaskan bahwa kolom dengan warna kuning menunjukkan adanya koloni bakteri pada sumur. Bentuk dan warna daripada koloni bakteri yang dimaksud disesuaikan dengan bentuk dan warna koloni pada kolom nomor 2 sebagai kontrol pertumbuhan positif, yang mana hanya terdapat inokulum bakteri tanpa ada pemberian perlakuan baik ekstrak maupun CHX. Sedangkan kolom dengan warna biru muda menunjukkan sumur tersebut sudah tidak terdapat koloni bakteri lagi yang ditandai dengan warna kolom pada sumur yang bening, terlihat tanpa koloni sama sekali. Sumur pertama dengan konsentrasi terendah yang sudah tidak menunjukkan adanya bakteri lagi dari hasil dilusi tersebut ditentukan sebagai nilai MIC.

Tabel 4.4. Representasi Uji MIC

Perlakuan (mg/ml)												Strain Bakteri
12 5,000	11 2,500	10 1,250	9 0,625	8 0,313	7 0,156	6 0,078	5 0,039	4 0,020	3 0,010	2 MHB dengan inokulum	1 MHB tanpa inokulum	
		MIC										MRSA 172918 + Ekstrak
			MIC									MRSA 172918 + CHX
	MIC											MRSA 176104 + Ekstrak
			MIC									MRSA 176104 + CHX
		MIC										MRSA 178349 + Ekstrak
						MIC						MRSA 178349 + CHX
	MIC											MRSA ATCC 700699 + Ekstrak
					MIC							MRSA ATCC 700699 + CHX

Penentuan nilai MIC dengan melihat sumur pertama yang terlihat bening tanpa endapan (koloni bakteri) ini mengacu pada penelitian Mazlan dkk. (2018) yang menyatakan bahwa pada sumur yang terlihat bening atau tanpa adanya endapan koloni bakteri menunjukkan nilai MIC atau konsentrasi minimal yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri. Hal ini sejalan dengan pernyataan Zainin dkk. (2013) yang menyatakan bahwa nilai MIC ditentukan dari kekeruhan sumur, sumur yang terlihat bening dan tidak ada endapan menunjukkan tidak ada pertumbuhan bakteri.

Elysa Meilani Faradina, 2020

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK BUAH KEMUKUS (*Piper cubeba* L.) TERHADAP BAKTERI METHICILLIN RESISTANT *Staphylococcus aureus* (MRSA)**

Universitas Pendidikan Indonesia | repository.upi.edu | perpustakaan.upi.edu

Berdasarkan hasil Tabel 4.4, strain bakteri MRSA 172918 dan MRSA 178349 dapat dihambat pertumbuhannya pada nilai MIC yang sama, yaitu pada konsentrasi 1,25 mg/ml. Maknanya, pada konsentrasi 1,25 mg/ml ekstrak buah kemukus sudah mampu menghambat pertumbuhan bakteri MRSA 172918 dan MRSA 178349. Berbeda halnya dengan strain bakteri MRSA 176104 dan MRSA ATCC 700699 yang memiliki nilai MIC yang lebih tinggi, yaitu pada konsentrasi 2,5 mg/ml. Maknanya, bakteri MRSA 176104 dan MRSA ATCC 700699 baru bisa dihambat pertumbuhannya pada konsentrasi ekstrak buah kemukus sebesar 2,5 mg/ml. Berdasarkan data tersebut, ekstrak buah kemukus memiliki kemampuan penghambatan pertumbuhan bakteri yang lebih baik pada bakteri MRSA 172918 dan MRSA 178349 karena konsentrasi penghambatan MICnya lebih kecil. Hal ini sesuai dengan hasil DDA yang sebelumnya telah dipaparkan. Pada hasil DDA, bakteri 178349 dan bakteri 172918 memiliki nilai zona hambat yang paling besar jika dibandingkan dengan dua bakteri lainnya. Maknanya, baik melalui uji DDA maupun MIC, ekstrak buah kemukus memiliki daya antibakteri yang cukup kuat terhadap bakteri MRSA 178349 dan bakteri MRSA 172918.

Pada penghambatan bakteri menggunakan perlakuan CHX, bakteri MRSA 172918 dan bakteri MRSA 176104 dapat dihambat pertumbuhannya pada konsentrasi MIC yang sama, yaitu 0,625 mg/ml. Bakteri MRSA 178349 dapat dihambat pertumbuhannya oleh CHX pada nilai MIC sebesar 0,078 mg/ml, sementara bakteri MRSA ATCC 700699 pada nilai MIC sebesar 0,156 mg/ml. Berdasarkan data tersebut, CHX memiliki kemampuan yang paling efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri MRSA 178349, hal tersebut karena CHX mampu menghambat pertumbuhan bakteri tersebut dengan konsentrasi yang paling kecil jika dibandingkan dengan konsentrasi penghambatan terhadap bakteri lain.

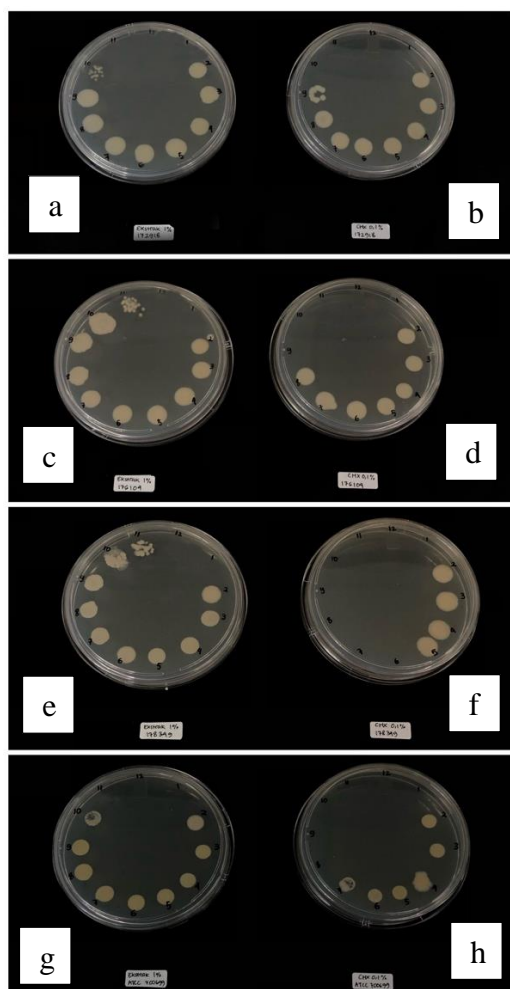
Kemampuan hambat antara ekstrak buah kemukus dengan CHX apabila dibandingkan CHX memiliki kemampuan penghambatan yang lebih baik. Hal ini karena CHX merupakan campuran beberapa zat yang sudah teruji secara klinis sebagai antiseptik sintesis serta dilaporkan sebagai agen yang optimal dalam menghambat pertumbuhan *S. aureus* dan dijadikan antiseptik untuk penyebab-penyakit yang ditimbulkan dari bakteri tersebut. Berdasarkan penelitian Horner dkk. (2012) CHX dilaporkan memiliki daya antibakteri yang cukup kuat terhadap



bakteri *Methicillin Susceptible Staphylococcus aureus* (MSSA) dan memiliki daya penghambatan MIC terhadap strain bakteri *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA).

#### 4.5 Minimum Bactericidal Concentration (MBC)

Penentuan nilai *Minimum Bactericidal Concentration* (MBC) dilakukan dengan cara menumbuhkan bakteri pada medium *Mueller Hinton Agar* (MHA). MBC merupakan konsentrasi terendah dari suatu antimikroba yang menunjukkan kurang dari 0,1% inokulum awal masih mampu bertahan atau dapat membunuh 99,9% bakteri selama waktu tertentu. Uji MBC menentukan konsentrasi terendah yang mana agen antimikroba akan membunuh mikroorganisme tertentu (Altun, 2014). Nilai MBC strain bakteri MRSA uji dapat dilihat pada Gambar 4.5 di bawah ini.



Gambar 4.5 Hasil MBC pada MHA

Elysa Meilani Faradina, 2020

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK BUAH KEMUKUS (*Piper cubeba* L.) TERHADAP BAKTERI METHICILLIN RESISTANT *Staphylococcus aureus* (MRSA)**

Universitas Pendidikan Indonesia | repository.upi.edu | perpustakaan.upi.edu

- (a) MRSA 172918 dengan ekstrak (b) MRSA 172918 dengan CHX (c) MRSA 176104 dengan ekstrak (d) MRSA 176104 dengan CHX (e) MRSA 178349 dengan ekstrak (f) MRSA 178349 dengan CHX (g) MRSA ATCC 700699 dengan ekstrak (h) MRSA ATCC 700699 dengan CHX

Nilai MBC ditentukan dari tidak tumbuhnya bakteri pada titik tertentu. Titik nomor 1 merupakan titik kontrol pertumbuhan negatif, yang mana pada titik tersebut hanya berisi medium tanpa inokulum bakteri. Jadi, pada titik tersebut tidak akan ditemukan adanya bentuk koloni bakteri atau jika ditumbuhkan di cawan Petri, maka tidak akan ada koloni bakteri yang tumbuh. Titik nomor 2 merupakan titik kontrol pertumbuhan positif, yang mana pada titik tersebut ditumbuhkan bakteri tanpa diberi zat antibakteri. Titik tersebut juga merupakan standar dari pertumbuhan bakteri bagi konsentrasi selanjutnya dalam menentukan nilai MIC.

Berdasarkan Gambar 4.5, diketahui bahwa ekstrak buah kemukus memiliki kemampuan yang sama dalam membunuh bakteri MRSA 176104, MRSA 178349 dan MRSA ATCC 700699, yaitu pada konsentrasi paling tinggi dalam uji ini, sebesar 5 mg/ml. Sementara pada bakteri MRSA 172918, ekstrak buah kemukus memiliki kemampuan yang lebih baik, dibuktikan dengan lebih kecilnya konsentrasi yang dibutuhkan untuk membunuh bakteri tersebut, yaitu pada konsentrasi 2,5 mg/ml. Hal ini juga sejalan dengan hasil MIC yang telah dipaparkan sebelumnya, yang mana pengaruh ekstrak buah kemukus terhadap bakteri MRSA 172918 memiliki nilai MIC yang paling rendah jika dibandingkan dengan bakteri MRSA lainnya.

Pengaruh CHX dalam membunuh empat strain bakteri MRSA uji berbeda-beda, kemampuan membunuh CHX terhadap bakteri uji paling baik ditemukan pada bakteri MRSA 178349 dengan konsentrasi MBC sebesar 0,078 mg/ml, disusul dengan bakteri MRSA ATCC 700699 pada konsentrasi 0,313 mg/ml, lalu MRSA 176104 pada konsentrasi 0,625 mg/ml dan terakhir pada bakteri MRSA 172918 pada konsentrasi 1,25 mg/ml.

Adapun representasi nilai MIC dan MBC suatu zat antibakteri yang digunakan dalam hal ini ekstrak buah kemukus dan CHX dapat dijelaskan pada Tabel 4.5 di bawah ini.

Tabel 4.5 Hasil Uji MIC dan MBC

Strain Bakteri		MIC (mg/ml)			Rata-rata (mg/ml) $\pm$ SD	MBC (mg/ml)			Rata-rata (mg/ml) $\pm$ SD
<b>MRSA 172918</b>	Ekstrak 1%	1,250	1,250	1,250	1,250 $\pm$ 0,00	2,500	2,500	2,500	2,500 $\pm$ 0,00
	CHX 0,1%	0,625	0,625	0,625	0,625 $\pm$ 0,00	1,250	1,250	1,250	1,250 $\pm$ 0,00
<b>MRSA 176104</b>	Ekstrak 1%	2,500	2,500	2,500	2,500 $\pm$ 0,00	5,000	5,000	5,000	5,000 $\pm$ 0,00
	CHX 0,1%	0,625	0,625	0,625	0,625 $\pm$ 0,00	0,625	0,625	0,625	0,625 $\pm$ 0,00
<b>MRSA 178349</b>	Ekstrak 1%	1,250	1,250	1,250	1,250 $\pm$ 0,00	5,000	5,000	5,000	5,000 $\pm$ 0,00
	CHX 0,1%	0,078	0,078	0,078	0,078 $\pm$ 0,00	0,078	0,078	0,078	0,078 $\pm$ 0,00
<b>MRSA ATCC 700699</b>	Ekstrak 1%	2,500	2,500	2,500	2,500 $\pm$ 0,00	5,000	5,000	5,000	5,000 $\pm$ 0,00
	CHX 0,1%	0,165	0,165	0,165	0,165 $\pm$ 0,00	0,313	0,313	0,313	0,313 $\pm$ 0,00

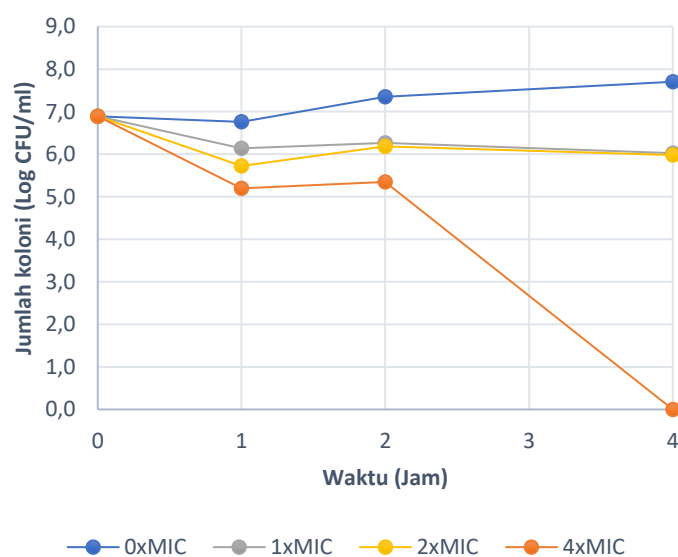
Berdasarkan Tabel 4.5, dapat diketahui bahwa sifat toksisitas selektif yang dimiliki oleh ekstrak buah kemukus adalah bakteriostatik. Hal tersebut karena ekstrak buah kemukus memiliki sifat menghambat lalu membunuh dalam kata lain memiliki nilai MBC yang lebih besar daripada nilai MIC. Hal ini merupakan kriteria yang cocok bagi suatu zat untuk dijadikan bahan antibakteri karena bahan tersebut tidak langsung membunuh sekaligus, melainkan membunuh perlahan ditandai dengan penghambatan sehingga bakteri uji yang merupakan flora normal tubuh hanya ditekan pertumbuhannya dalam batas normal (Rukayadi dkk., 2016).

Berbeda dengan ekstrak buah kemukus, CHX memiliki sifat bakteriostatik terhadap bakteri MRSA 172918 dan MRSA ATCC 700699, namun bersifat bakteriosidal terhadap MRSA 176104 dan MRSA 178349. Sifat bakteriosidal diketahui jika nilai MIC dan MBC suatu zat antibakteri itu sama terhadap bakteri tersebut. Hal tersebut bermakna bahwa CHX memberikan efek membunuh sel sekaligus tanpa ada penghambatan sebelumnya. Pada bakteri MRSA 176104 dan MRSA 178349, nilai MBCnya sama dengan nilai MICnya.

#### 4.6 *Time Kill Assay*

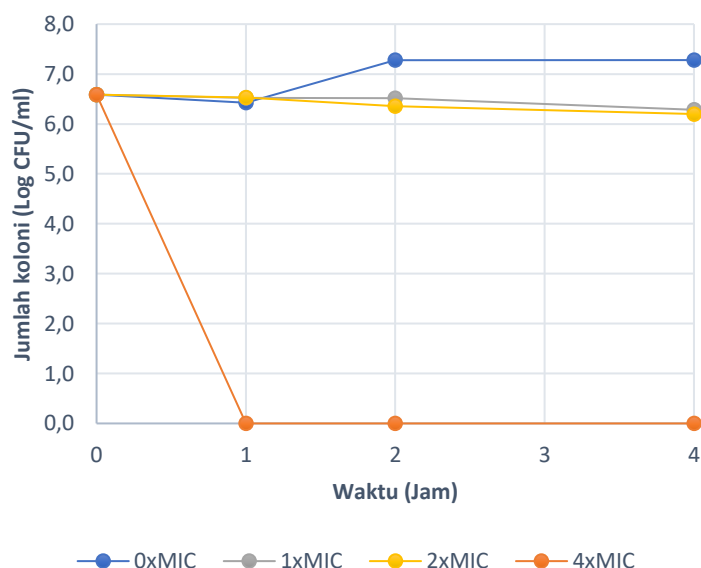
*Time Kill Test* atau *Time Kill Assay* dilakukan untuk mengevaluasi bahan uji antimikroba dan menilai pengurangan populasi mikroba uji setelah diberikan perlakuan dengan ekstrak antimikroba dalam hal ini adalah ekstrak etanolik *Piper cubeba* L. Analisis *Time Kill* mengukur perubahan populasi mikroorganisme dalam waktu *sampling* tertentu setelah terpapar bahan uji antimikroba secara *in vitro*. Pengurangan tersebut ditinjau dari beberapa dimensi seperti tahapan waktu tertentu, suhu tertentu dan konsentrasi zat antimikroba tertentu (Rukayadi dkk., 2016).

Uji *Time Kill Assay* yang dilakukan dalam penelitian ini dilakukan dengan menggunakan empat variasi konsentrasi, yaitu pada 0×MIC, 1×MIC, 2×MIC dan 4×MIC. Nilai MIC tersebut didapat dari uji MIC yang telah dilakukan sebelumnya. Nilai 0×MIC adalah inokulum bakteri tanpa pemberian ekstrak. Sementara nilai 1×MIC merupakan nilai konsentrasi penghambatan minimum yang didapat saat uji MIC. Selanjutnya, nilai 2×MIC dan 4×MIC merupakan pelipat gandaan konsentrasi daripada nilai MIC yang didapat pada uji MIC. Selain variasi waktu, terdapat pula variasi waktu yang digunakan dalam penelitian ini yaitu, 0 jam, 1 jam, 2 jam dan 4 jam. Variasi waktu tersebut dimaksudkan agar rentang waktu penelitian cukup terlihat perbedaannya dengan jelas. Hasil kurva *Time Kill Assay* yang telah dilakukan dijelaskan dalam Gambar 4.6.1, Gambar 4.6.2, Gambar 4.6.3 dan Gambar 4.6.4. di bawah ini.



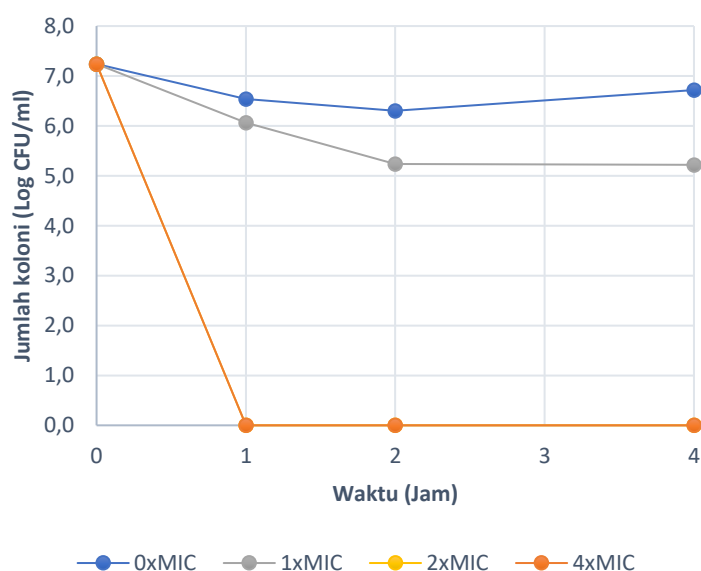
Gambar 4.6.1. Hasil *Time Kill Assay* MRSA 172918

Berdasarkan data pada Gambar 4.6.1, terlihat jelas bahwa pertumbuhan bakteri MRSA 172918 pada konsentrasi 0xMIC (tanpa pemberian ekstrak buah kemukus) terus meningkat seiring berjalannya waktu dari jam ke-0 hingga jam ke-4. Sedangkan pada pemberian konsentrasi ekstrak buah kemukus 1xMIC dan 2xMIC terlihat adanya penurunan jumlah koloni bakteri dari waktu ke waktu namun belum sampai mematikan seluruhnya. Pada konsentrasi 4xMIC, terlihat adanya *zero point* atau matinya pertumbuhan bakteri pada jam ke-4.



Gambar 4.6.2 Hasil *Time Kill Assay* MRSA 176104

Berdasarkan data pada Gambar 4.6.2, terlihat jelas bahwa pertumbuhan bakteri MRSA 176104 pada konsentrasi 0×MIC (tanpa pemberian ekstrak buah kemukus) terus meningkat seiring berjalannya waktu dari jam ke-0 hingga jam ke-4. Sedangkan pada pemberian konsentrasi ekstrak buah kemukus 1×MIC dan 2×MIC terlihat adanya penurunan jumlah koloni bakteri dari waktu ke waktu namun belum sampai mematikan seluruhnya. Pada konsentrasi 4×MIC, terlihat adanya *zero point* atau matinya pertumbuhan bakteri sejak jam ke 1.

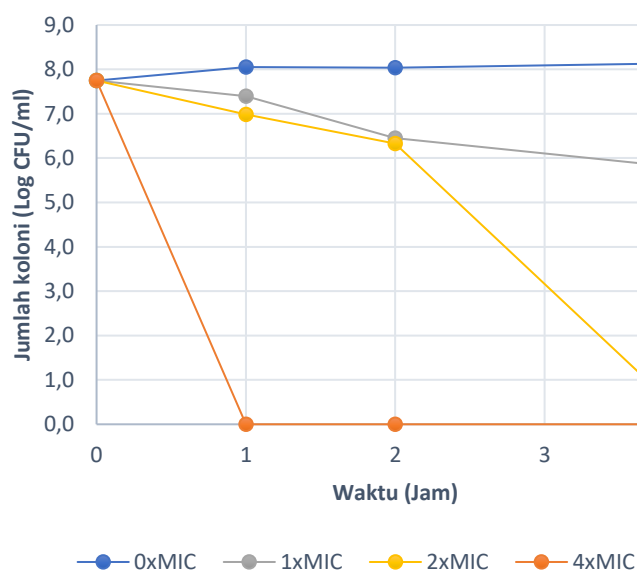


Gambar 4.6.3. Hasil *Time Kill Assay* MRSA 178349

Berdasarkan data pada Gambar 4.6.3, terlihat jelas bahwa pertumbuhan bakteri MRSA 178349 pada konsentrasi 0×MIC (tanpa pemberian ekstrak buah kemukus) terus meningkat seiring berjalannya waktu dari jam ke-0 hingga jam ke-4. Sedangkan pada pemberian konsentrasi ekstrak buah kemukus 1×MIC terlihat adanya penurunan jumlah koloni bakteri dari waktu ke waktu namun belum sampai mematikan seluruhnya. Pada konsentrasi 2×MIC dan 4×MIC, sudah terlihat adanya *zero point* atau matinya pertumbuhan bakteri sejak jam ke 1.

Hal ini sejalan dengan beberapa uji sebelumnya. Strain bakteri MRSA 178349 pada uji DDA memiliki nilai zona hambat yang paling besar diantara bakteri MRSA lainnya, pada uji MIC dan MBC, bakteri ini juga memiliki nilai MIC dan MBC yang lebih rendah daripada bakteri lainnya. Hal ini bermakna bahwa bakteri MRSA 178349 memiliki tingkat kerentanan yang lebih tinggi terhadap ekstrak buah kemukus dibanding bakteri MRSA lainnya, atau dalam kata lain, ekstrak buah

kemukus memiliki pengaruh antibakteri yang paling kuat terhadap bakteri MRSA 178349.



Gambar 4.6.4 Hasil *Time Kill Assay* MRSA ATCC 700699

Berdasarkan data pada Gambar 4.6.4, terlihat jelas bahwa pertumbuhan bakteri MRSA ATCC 700699 pada konsentrasi 0xMIC (tanpa pemberian ekstrak buah kemukus) terus meningkat seiring berjalannya waktu dari jam ke-0 hingga jam ke-4. Sedangkan pada pemberian konsentrasi ekstrak buah kemukus 1xMIC terlihat adanya penurunan jumlah koloni bakteri dari waktu ke waktu namun belum sampai mematikan seluruhnya. Pada konsentrasi 2xMIC pun terdapat penurunan konsentrasi dari waktu ke waktu dan terdapat *zero point* pada jam ke-4. Sementara grafik pada konsentrasi 4xMIC menunjukkan bahwa sudah terlihat adanya *zero point* atau matinya pertumbuhan bakteri sejak jam ke 1. Adapun dokumentasi mengenai penurunan jumlah koloni bakteri pada uji *Time Kill Assay* dapat dilihat pada Lampiran 4.

Berdasarkan hasil kurva *Time Kill Assay* ke empat strain MRSA yang diuji, strain MRSA 178349 merupakan strain yang paling mudah dihambat oleh ekstrak kemukus 1%. Hal ini dibuktikan dengan rendahnya konsentrasi MIC yang dapat membunuh koloni bakteri tersebut pada uji *Time Kill Assay*. Pada strain bakteri MRSA 178349, koloni bakteri tersebut dapat dibunuh seluruhnya pada konsentrasi 2xMIC sejak jam ke 1 sehingga tidak akan ditemukan lagi koloni yang tumbuh pada konsentrasi MIC yang lebih tinggi dan jam yang lebih lama dari waktu



tersebut. Hal ini sejalan dengan beberapa uji yang telah dilakukan sebelumnya. Strain bakteri MRSA 178349 terbukti memiliki diameter zona hambat yang paling besar jika dibandingkan dengan diameter zona hambat strain bakteri lainnya pada uji DDA. Pada uji MIC dan MBC, strain bakteri ini menunjukkan konsentrasi penghambatan dan konsentrasi yang menyebabkan kematian yang paling kecil. Maknanya, strain bakteri MRSA 178349 merupakan strain bakteri yang memiliki kerentanan yang paling tinggi terhadap ekstrak etanolik 1% buah kemukus dibandingkan dengan tiga strain MRSA lainnya.

Setelah strain bakteri MRSA 178349, strain bakteri MRSA ATCC 700699 pada uji *Time Kill Assay* memiliki tingkat kerentanan terhadap ekstrak 1% buah kemukus yang paling tinggi kedua. Hal ini dibuktikan dengan matinya semua koloni bakteri tersebut pada konsentrasi  $2 \times \text{MIC}$  dan pada waktu jam ke-4 sehingga tidak akan ditemukan lagi koloni yang tumbuh pada konsentrasi MIC yang lebih tinggi dan jam yang lebih lama dari waktu tersebut. Hal ini sejalan dengan uji MIC dan MBC yang telah dilakukan bahwa strain bakteri MRSA ATCC 700699 memiliki konsentrasi MIC dan MBC yang lebih kecil jika dibandingkan strain bakteri MRSA 172918 dan MRSA 176104.

Selanjutnya, strain bakteri MRSA 176104 dapat mati koloni keseluruhannya pada konsentrasi  $4 \times \text{MIC}$  dan jam ke-1, menandakan bahwa kerentanan bakteri tersebut lebih rendah atau resistensi bakteri tersebut lebih kuat terhadap pemberian 1% ekstrak buah kemukus jika dibandingkan dua strain bakteri yang sebelumnya telah disebutkan. Sementara itu, strain bakteri MRSA 172918 dapat dimatikan koloni keseluruhannya pada konsentrasi  $4 \times \text{MIC}$  dan pada jam ke-4, menandakan bahwa ketahanan bakteri tersebut paling rendah atau resistensi bakteri tersebut dinilai paling kuat terhadap pemberian 1% ekstrak buah kemukus jika dibandingkan tiga strain bakteri MRSA sebelumnya karena memerlukan konsentrasi yang mematikan paling tinggi dan waktu yang paling lama.

Berdasarkan penelitian Thammawat dkk. (2017) yang meneliti tentang kurva *Time Kill Assay* bakteri MRSA yang diberi pengaruh ekstrak miselium dari *Polycephalomyces nipponicus* 10%, bakteri MRSA uji tersebut mampu dimatikan secara total pada konsentrasi  $2 \times \text{MIC}$  (6,25 mg/ml) dan pada waktu 2 jam. Selain itu, berdasarkan penelitian Rolston dkk. (2014) yang meneliti tentang kurva *Time*

*Kill Assay* bakteri MRSA yang diberi pengaruh *telavancin*, *vancomycin* dan *linezolid* menyatakan bahwa pemberian beberapa agen antibakteri terhadap bakteri MRSA uji tersebut tidak mampu mematikan secara total bakteri MRSA yang diuji dalam waktu 24 jam pada konsentrasi MIC 2 dan 3 mg/ml.

Berdasarkan pemaparan beberapa penelitian sebelumnya di atas, dapat dinyatakan bahwa ekstrak buah kemukus 1% memiliki potensi yang sangat besar sebagai agen antibakteri alami terhadap strain bakteri MRSA. Hal tersebut karena ekstrak buah kemukus 1% terbukti mampu membunuh total koloni ke empat strain bakteri MRSA uji pada konsentrasi yang lebih rendah dan pada waktu yang lebih singkat dibandingkan dengan konsentrasi pengaruh ekstrak miselium *Polycephalomyces nipponicus* 10% dan pengaruh pemberian agen antibiotik *telavancin*, *vancomycin* dan *linezolid* pada penelitian sebelumnya.